

博士の学位論文審査結果の要旨

申請者氏名 川崎 隆

横浜市立大学 大学院医学研究科 脳神経外科学

審 査 員

主査 横浜市立大学 大学院医学研究科教授 船越 健悟

副査 横浜市立大学 大学院医学研究科教授 井濱 容子

副査 横浜市立大学 大学院医学研究科教授 宇都宮 大輔

博士の学位論文審査結果の要旨

Topographic anatomy of the subthalamic nucleus localized by high-resolution human brain atlas superimposing digital images of microscopic sections from frozen cadaveric brains

(凍結標本脳から作成した脳断面のデジタル画像と組織標本切片を融合させた高解像度ヒト脳アトラスにおける視床下核の局所解剖)

1. 序論

脳深部刺激術(deep brain stimulation, DBS)は、振戦、パーキンソン病、ジストニアなどの運動異常症に対し行われている。DBS 手術はターゲットの核の活動性を選択的に調節することで疾患の病態生理を解明すると同時に、ヒトの基底核の役割をも解明してきた(DeLong, 2015, Kato, 2016)。その際、どの部分の神経活動の調整が行われたかを正確に知るには、解剖の把握が必要となる。また定位的 DBS 手術においてはターゲット位置の正確な決定が、手術結果に直接影響する(de Chazeron, 2016, Mirzadeh, 2014)。しかし主なターゲットである視床下核(STN)は MRI 上、周辺部は不明瞭で、その輪郭・境界を明確に描出することは、困難である。そこでホルマリン固定脳から作製された定位脳アトラスが重要な役割を担う(Niemann, 1994, Sather, 2007)。アトラスをデジタル化し、拡大率(縮尺)を調整し、患者の MRI に重ね合わせることで、形、大きさ、位置の個人差を補正してきた(Shin, 2010)。ただ、既存のアトラスには多くの欠点があり、3D 化には適していない(Nowinski, 1998)。“完璧な”ヒト脳アトラスを作ることは、実際には困難である。

そこで今回我々は、遺体脳を使用し基底核部を含む凍結連続切片から、新しい 3D アトラスを作製した。

2. 方法

日本人 10 体、10 半球を使用した。ホルマリン液に浸透させた後、各半球は正中で切断し、正中矢状面で前交連(anterior commissure, AC)、後交連(posterior commissure, PC)と、その中点(mid AC-PC point, MCP)を同定した。AC-PC 線を含んだ大脳基底核周辺部をブロックとし、リン酸・グリセリンバッファーに浸透

させた後、 -40°C で凍結した。

各凍結ブロックからマイクロトームで $50\mu\text{m}$ 厚の切片を作成した。上方にデジタルカメラを設置し、切片が切られた各断面の表面を撮影しデジタルデータとして記録した。画像はコンピュータ上で、画像編集ソフトウェアを用いて、gray-white コントラストを強調した(digital images of the cross-sectioned surface, DICSS)。

凍結切片の 10 スライスごとに、切片の KB(Kluver-Barrera)染色を行った。それを顕微鏡下で写真を撮り、顕微鏡切片のデジタル画像(digital images from microscopic sections, DIMS)とした。DIMS は画像編集ソフトウェアを用いて、縮尺を調整後、DICSS に重ね合わせ輪郭を融合させた。DICSS が核の領域を正確に表しているかどうかを、STN 周辺の DICSS の gray-white コントラストと DIMS 上の neuron-myelin コントラストを比較し評価した。

3D 合成ソフトウェア TRI を用いて、DICSS から STN の 3D モデルを作成した。3D モデル上で STN の前方、後方、内側、外側、上方、下方の境界を同定し、前方境界と後方境界の中心面、内側境界と外側境界の中心面、腹側境界と背側境界の中心面の交点を STN の中心点と定義し座標を測定した。

3. 結果

10 個の半球のうち、3 個は水平断(軸位断)、3 個は冠状断、3 個は矢状断とした。もう一つは DBS 手術時の電極刺入角度と同じ断面、すなわち通常の冠状断に対し前方へ 45 度傾いた断面図を作成した。

DIMS 上で、STN はミエリン線維に囲まれたアーモンド型の構造物として同定され、周辺組織との境界は明瞭であった。DICSS 上での境界は DIMS 上の組織学的境界と一致しており、DICSS 上の gray area は、細胞密度の高い部分であることを表していた。

DICSS の各断面図上で STN を同定・抽出し、3D モデルを作成した。STN は細長い平皿状の形状で、その長軸は前内下方から後外上方へ傾斜していた。10 個の STN 中心点の平均座標は、正中から 11.95mm 外側、MCP から 1.14mm 後、MCP から 2.67mm 下方であった。中心点を通る長軸の長さは平均 10.73mm であった。3D モデル上で DBS 手術時シミュレーションとして、前方へ 45 度、正中から 10 度傾いた電極刺入路を描き、それが STN を通過する距離を測定すると、平均 6.66mm であった。

4. 考察

STN-DBS 手術においては、電極を正確に留置するためにアトラスは重要な役割を演じている。今回我々は新しい基底核デジタル脳アトラスを開発した。基底核の連続画像の、明瞭な gray-white コントラストは各構造の境界の把握を容易にし、更に任意の角度での断面図も作成可能である。また顕微鏡下での観察との比較により核内の細胞分布や周辺の神経線維を評価することもできる。我々のアトラスは 3D 化に耐えうる特徴を備えており、ナビゲーションシステムにインストールすれば、患者の MRI に融合させて、STN の境界を明確に示すことができ、アトラス上で DBS の術中にリアルタイムで電極位置の評価も可能となる。

結語。我々は標本脳からの凍結切片 (DICSS) と顕微鏡切片 (DIMS) を重ね合わせ、高解像度のヒト基底核部の脳アトラスを開発した。MRI でも明瞭に描出されない構造物の解剖を、明らかにし、ヒト大脳基底核の解剖学的研究の発展に寄与すると思われる。

論文要旨に対し、以下の質疑応答がなされた。

宇都宮副査からの質問

1) 手術用アトラスでは個人差が問題となるが、実際の手術時の電極刺入ではどの程度の誤差まで許容可能か。

回答：手術時の電極刺入は 2mm のズレまでは補正が可能でそれ以内であれば容易に補正できる。

井濱副査からの質問

1) アトラスの献体者の平均年齢が 80 代と高齢であるが、実際の手術の時の患者の年齢はどのくらいか。また MRI などの画像では年齢により度の程度の差があるのか。

回答：手術患者の平均年齢は 50-60 代であり、献体よりもかなり若い。今回の研究ではその点は問題であると思っている。ただ、MRI 画像などでは、年齢により脳深部の大脳基底核や視床は大きな差はないと思われる(大脳皮質は萎縮などで個人差が大きい)。ACPC 線の平均が今回研究の脳の平均が 21mm 程度、

手術患者の平均が 22mm 程度と 1mm しか差がない．年齢による差よりは，変性疾患などの原病による差の方が大きいように思われる．

2) (同一脳の)左右差についてはどうか．

回答：今回の研究では左右差については検討していない．

船越主査からの質問，コメント

1) 今回の研究ではアトラスとした脳は左右どちらかの半球に統一したのか．

回答：統一していない．

2) Schaltenbrand and Wahren atlas では，視床の亜核について，解剖学では用いられていない用語が使われている．例えば Vim は解剖学用語集にはない．

回答：臨床の間では非常によく使われている．Vim は DBS で振戦に対し有効な核と認識している．実際，視床の亜核の分類は複雑で，多くの方法が提唱されている．臨床での分類と解剖学での分類にも違いが有る．

3) 将来的には解剖学の terminology も取り入れたアトラスの作成を期待する．

回答：今後，是非検討したい．

4) DBS は低頻度刺激なのか，高頻度刺激なのか．

回答：基本的には（古典的なターゲット STN, GPi, Vim）高頻度刺激による活動性の抑制である．パーキンソン病においてはこれらの核の活動性が過剰に興奮しているため，それを DBS により抑制するという治療である．ただし，痛みに対する DBS であったり，すくみ足に対する脚橋被蓋核の刺激などでは低頻度刺激で核の活動性を促進する．

以上の質疑応答が行われた後，審査員による協議の結果，本研究は博士号(医学)の授与に値するものと判定された．